

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS ESPAÑOLES DE***Little cherry virus 1***

Ruiz-García, A.B¹.; Martínez, C.¹; Olmos, A.¹

¹Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) (aolmos@ivia.es)

Little cherry virus 1 (LChV-1), del género *Velarivirus*, familia *Closteroviridae*, fue identificado por primera vez por Keim-Konrad y Jelkmann en 1996. Los principales síntomas que produce en el cerezo son la reducción del tamaño y la pérdida de propiedades organolépticas del fruto. El virus, que se transmite por injerto y mecánicamente, está contemplado en las Directivas 2008/61/CE y 2014/98/UE. La detección de LChV-1 se basa fundamentalmente en métodos de RT-PCR convencional, siendo los iniciadores específicos más utilizados los diseñados por Jelkman et al. (2001), LChV-1-F 5' TCCGCCTGAAGCACCTA ATCCA 3' y LChV-1-R 5' GGTAAGCGGTATAAAACCCTCCTCT3'. Sin embargo, cuando se ha utilizado esta técnica para la detección de aislados españoles de LChV-1 ha resultado ser un método poco fiable, habiéndose detectado el virus con una prevalencia baja y de manera poco reproducible. Para confirmar la presencia real del virus en España, se analizaron muestras sintomáticas de brotes de la D.O. Valle del Jerte y Ponferrada mediante secuenciación masiva de siRNAs. El análisis bioinformático permitió recuperar para ambos aislados un genoma completo de 16933 nt (GenBank KX192366 and KX192367). La comparación de los aislados Jerte y Ponferrada con las secuencias disponibles en GenBank mostró una alta homología con el aislado Taian de LChV-1, con una identidad de secuencia que varió entre el 94.8% y el 98.9% para las ocho ORFs virales. El análisis del genoma de los aislados españoles reveló un alto grado de divergencia en las regiones utilizadas para el diseño de los iniciadores descritos en la bibliografía, lo que explica la dificultad de la detección utilizando este método. La caracterización de la secuencia de los aislados españoles nos ha permitido diseñar nuevos iniciadores específicos capaces de detectar el virus, 5'CCAATGCACAAAGCACATATGA3' y 5'ACCGCGACGTGGTCCTAATA3'. El análisis por RT-PCR de un total de 60 muestras de cerezo utilizando estos iniciadores ha confirmado la presencia de este virus en España, con una prevalencia mucho mayor de la esperada.